

(19)

Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 725 061 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
07.08.1996 Patentblatt 1996/32

(51) Int. Cl.⁶: C07D 209/18, C07D 209/24,
A61K 31/40

(21) Anmeldenummer: 96100761.4

(22) Anmeldetag: 19.01.1996

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC NL
PT SE

(30) Priorität: 01.02.1995 DE 19503159
11.04.1995 DE 19513716

(71) Anmelder: BAYER AG
51368 Leverkusen (DE)

(72) Erfinder:
• Müller-Gliemann, Matthias, Dr.
D-42697 Solingen (DE)
• Müller, Ulrich, Dr.
D-42111 Wuppertal (DE)
• Beuck, Martin, Dr.
Milford, CT 06460 (US)

• Zaiss, Sigfried, Dr.
D-42113 Wuppertal (DE)
• Gerdes, Christoph, Dr.
D-51373 Leverkusen (DE)
• Domdey-Bette, Anke, Dr.
D-42499 Hückeswagen (DE)
• Grützmann, Rudi, Dr.
D-42657 Solingen (DE)
• Lohmer, Stefan, Dr.
I-20133 Milano (IT)
• Wohlfel, Stefan, Dr.
D-40724 Hilden (DE)
• Yalkinoglu, Özkan, Dr.
D-42115 Wuppertal (DE)
• Elting, James, Dr.
Madison, CT 06443 (US)
• Denzer, Dirk, Dr.
D-42115 Wuppertal (DE)

(54) Substituierte Indol-Derivate

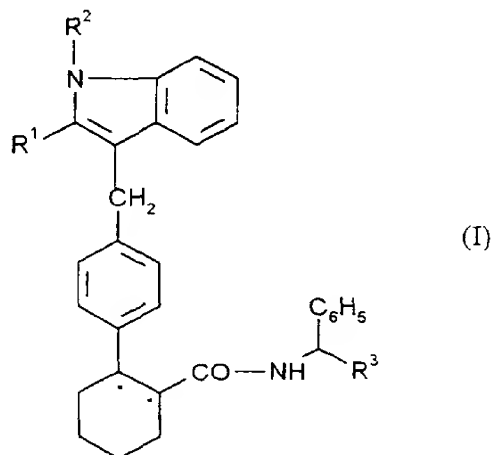
(57) Substituierte Indol-Derivate werden hergestellt, indem man die entsprechenden Carbonsäuren, gegebenenfalls in Anwesenheit von Hilfsmitteln mit entsprechenden Aminen umsetzt. Die substituierten Indol-Derivate eignen sich als Wirkstoffe in Arzneimitteln, insbesondere in Arzneimitteln zur Behandlung von Arteriosklerose und Restenose.

EP 0 725 061 A1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft Indol-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung in Arzneimitteln, insbesondere zur Behandlung der Arteriosklerose und der Restenose.

Die vorliegende Erfindung betrifft substituierte Indol-Derivate der allgemeinen Formel (I)



in welcher

R^1 für Phenyl, Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen steht,

R^2 für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R^3 für einen Rest der Formel $-CO-NH_2$ oder $-CH_2-OH$ steht,

und deren Salze.

Die erfindungsgemäßen substituierten Indol-Derivate können auch in Form ihrer Salze vorliegen. Im allgemeinen seien hier Salze mit organischen oder anorganischen Basen oder Säuren genannt.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden physiologisch unbedenkliche Salze bevorzugt. Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen können Salze der erfindungsgemäßen Stoffe mit Mineralsäuren, Carbonsäuren oder Sulfonsäuren sein. Besonders bevorzugt sind z.B. Salze mit Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure oder Benzoesäure.

Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Metall- oder Ammoniumsalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sein, welche eine freie Carboxylgruppe besitzen. Besonders bevorzugt sind z.B. Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calciumsalze, sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak, oder organischen Aminen, wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Arginin, Lysin, Ethylendiamin oder 2-Phenylethylamin.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in stereoisomeren Formen, die sich entweder wie Bild und Spiegelbild (Enantiomere), oder die sich nicht wie Bild und Spiegelbild (Diastereomere) verhalten, existieren. Die Erfindung betrifft sowohl die Enantiomeren oder Diastereomeren oder deren jeweiligen Mischungen. Die Racemformen lassen sich ebenso wie die Diastereomeren in bekannter Weise in die stereoisomeren einheitlichen Bestandteile trennen.

Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),

in welcher

R^1 für Phenyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,

R^2 für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R^3 für einen Rest der Formel $-CO-NH_2$ oder $-CH_2-OH$ steht,

5 und deren Salze.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),
in welcher

R^1 für Phenyl, Cyclopropyl, Ethyl, iso-Propyl oder n-Butyl steht,

10

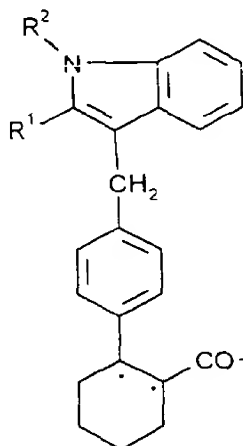
R^2 für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl ist mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R^3 für einen Rest der Formel $-CO-NH_2$ oder $-CH_2-OH$ steht,

15 und deren Salze.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) werden hergestellt, indem man Verbindungen
der allgemeinen Formel (II)

20



25

(II)

30

35

in welcher

40 R^1 und R^2 die angegebene Bedeutung haben,

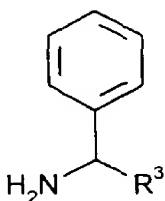
und

R^4 für geradkettiges oder verzweigtes C_1 - C_4 -Alkoxy oder Hydroxy stehen

45

verseift und die Säure, gegebenenfalls unter vorgeschalteter Aktivierung, in inerten Lösemitteln, in Anwesenheit einer
Base und/oder Dehydratisierungsmittel mit Phenylglycin-Derivaten der allgemeinen Formel (III)

50



(III)

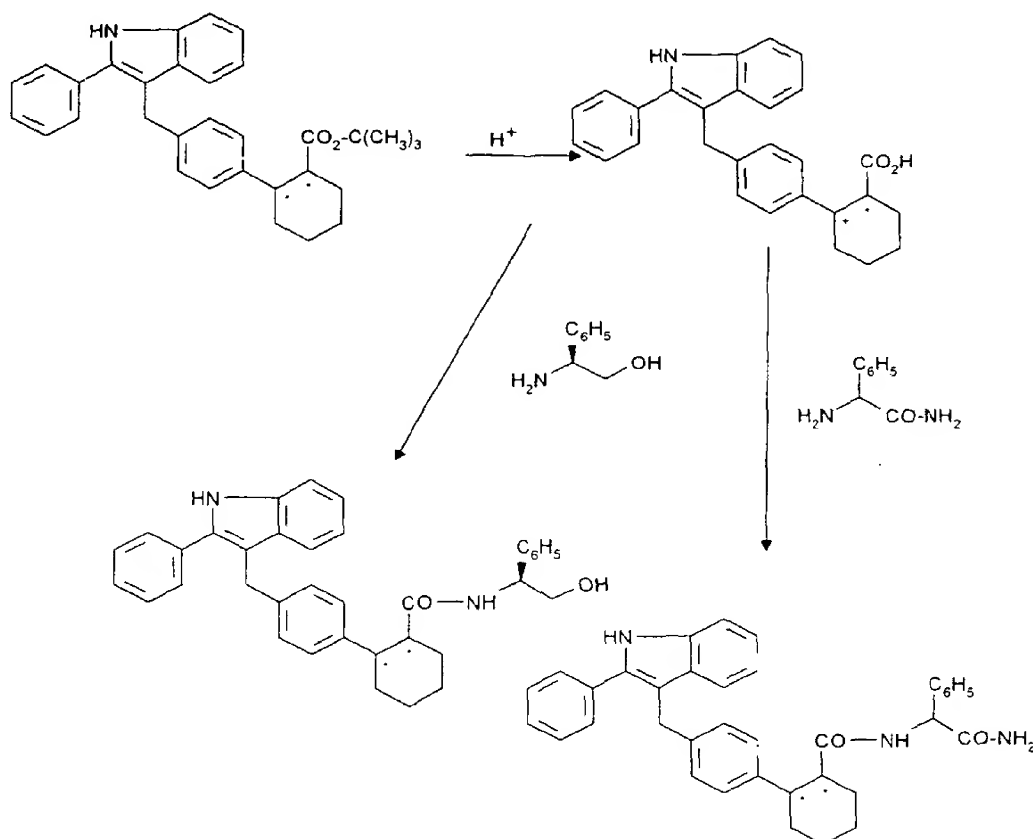
55

in welcher

R^3 die angegebene Bedeutung hat,

umsetzt.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann durch folgendes Formelschema beispielhaft erläutert werden:



Als Lösemittel für das Verfahren eignen sich übliche organische Lösemittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören bevorzugt Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether, oder Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Dichlorethylen, Trichlorethylen oder Chlorbenzol, oder Essigester, Triethylamin, Pyridin, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Hexamethylphosphorsäuretriamid, Acetonitril, Aceton oder Nitromethan. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel zu verwenden. Bevorzugt sind Dichlormethan, Tetrahydrofuran und Dimethylformamid.

Als Basen für das erfindungsgemäße Verfahren können im allgemeinen anorganische oder organische Basen eingesetzt werden. Hierzu gehören vorzugsweise Alkalihydroxide wie zum Beispiel Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid, Erdalkalihydroxide wie zum Beispiel Bariumhydroxid, Alkalicarbonate wie Natriumcarbonat, Kaliumcarbonat oder Cäsiumcarbonat, Erdalkalicarbonate wie Calciumcarbonat, oder Alkali- oder Erdalkalialkoholate wie Natrium- oder Kaliummethanolat, Natrium- oder Kaliumethanolat oder Kalium-tert.butylat, oder organische Amine (Trialkyl($\text{C}_1\text{-C}_6$)amine) wie Triethylamin, oder Heterocyclen wie 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO), 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), Pyridin, Diaminopyridin, Methylpiperidin oder Morpholin. Es ist auch möglich, als Basen Alkalimetalle wie Natrium oder deren Hydride wie Natriumhydrid einzusetzen. Bevorzugt sind Natriumhydrid, Kaliumcarbonat, Triethylamin, Trimethylamin, Pyridin, Kalium-tert.butylat, DBU oder DABCO.

Im allgemeinen setzt man die Base in einer Menge von 0,05 Mol bis 10 Mol, bevorzugt von 1 Mol bis 2 Mol bezogen auf 1 Mol der Verbindung der Formel (II) ein.

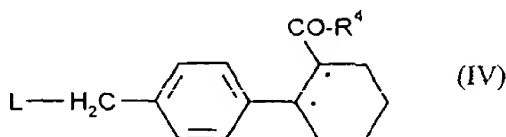
Das erfindungsgemäße Verfahren wird im allgemeinen in einem Temperaturbereich von -50°C bis +100°C, bevorzugt von -30°C bis +60°C, durchgeführt.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird im allgemeinen bei Normaldruck durchgeführt. Es ist aber auch möglich, das Verfahren bei Überdruck oder bei Unterdruck durchzuführen (z.B. in einem Bereich von 0,5 bis 5 bar).

Die Amidierung kann gegebenenfalls über die aktivierte Stufe der Säurehalogenide oder gemischter Anhydride, die aus den entsprechenden Säuren durch Umsetzung mit Thionylchlorid, Phosphortrichlorid, Phosphorpentachlorid, Phosphortribromid oder Oxalylchlorid oder Methansulfonsäurechlorid hergestellt werden können, verlaufen.

Als Dehydratisierungsreagenzien eignen sich Carbodiimide wie beispielsweise Diisopropylcarbodiimid, Dicyclohexylcarbodiimid oder N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimidazol oder 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfonat oder Propanphosphonsäureanhydrid oder Isobutylchloroformat oder Benzotriazoloxyl-tris-(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat oder Phosphorsäurediphenylesteramid oder Methansulfonsäurechlorid, gegebenenfalls in Anwesenheit von Basen wie Triethylamin oder N-Ethylmorpholin oder N-Methylpiperidin oder Dicyclohexylcarbodiimid und N-Hydroxysuccinimid.

Die Verbindungen der Formel (II) sind neu und werden hergestellt indem man, Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)



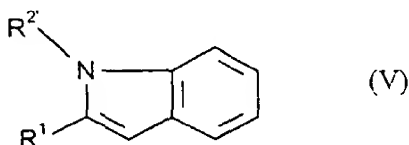
in welcher

L für eine typische Abgangsgruppe wie beispielsweise Chlor, Brom, Jod, Tosylat oder Mesylat, vorzugsweise für Brom, steht

und

R⁴ für geradkettiges oder verzweigtes C₁-C₄-Alkoxy oder Carboxy steht,

zunächst mit Verbindungen der allgemeinen Formel (V)



in welcher

R¹ die oben angegebene Bedeutung hat,

und

R² für Wasserstoff steht,

in inerten Lösemitteln, gegebenenfalls in Anwesenheit einer Base, umgesetzt und im Fall R² ≠ H eine Alkylierung nach üblichen Methoden anschließt.

Als Lösemittel, Basen können die oben angegebenen Lösemittel und Basen verwendet werden; bevorzugt sind Dimethylformamid und Kalium-tert.butylat.

Die Alkylierung erfolgt im allgemeinen in einem der oben aufgeführten Lösemittel, vorzugsweise Dimethylformamid mit C₁-C₈-Alkylhalogeniden, vorzugsweise Jodiden, in einem Temperaturbereich von 0°C bis Raumtemperatur und Normaldruck.

Die Verbindungen der Formeln (III), (IV) und (V) sind an sich bekannt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches Wirkspektrum.

Überraschenderweise inhibieren sie die Proliferation von glatten Muskelzellen. Sie können deshalb zur Behandlung der Arteriosklerose und der Restenose eingesetzt werden.

Untersuchung zur Inhibition der Proliferation glatter Muskelzellen durch die erfindungsgemäßen Verbindungen

Zur Feststellung der antiproliferativen Wirkung der Verbindungen werden glatte Muskelzellen verwendet, die aus den Aorten von Schweinen durch die Media-Explantat-Technik gewonnen werden [R. Ross, J. Cell. Biol. 50, 172, 1971]. Die Zellen werden in geeigneten Kulturschalen, in der Regel 96-Loch-Platten, ausgesät und für 2 - 3 Tage in Medium 199 mit 7,5% FCS und 7,5% NCS, 2 mM L-Glutamin und 15 mM HEPES, pH 7,4 in 5% CO₂ bei 37°C kultiviert. Danach werden die Zellen durch Serumentzug für 2 - 3 Tage synchronisiert und sodann mit Serum oder anderen Faktoren zum Wachstum angeregt. Gleichzeitig werden Testverbindungen zugesetzt. Nach 16 - 20 Stunden wird ³H-Thymidin zugefügt und nach weiteren 4 Stunden der Einbau dieser Substanz in die TCA-präzipitierbare DNA der Zellen bestimmt. Zur Bestimmung der IC₅₀-Werte wird die Wirkstoffkonzentration errechnet, die bei sequentieller Verdünnung des Wirkstoffes halbmaximale Hemmung der durch 10% FCS hervorgerufene Thymidininkorporation bewirkt.

Tabelle A

Beispiel-Nr.	IC ₅₀ (nM)
3	0,02

Untersuchungen zur Inhibition der c-fos Genexpression glatter Muskelzellen durch die erfindungsgemäßen Verbindungen

Die antiproliferative Wirkung der Verbindungen wurde hinsichtlich der Serum- und Wachstumsfaktor-vermittelten Signaltransduktion und Induktion der c-fos Genexpression in Glattmuskelzell-Reporterlinien untersucht. Als Reporter dient hierbei die Luciferase, dessen Expression über den humanen c-fos Promotor gesteuert wird. Das c-fos Promotor/Luciferasekonstrukt ist stabil in die chromosomale DNA der Ratten-Glattmuskelzelllinie A 10 (ATCC CRL 1476) integriert. Die Reporterzellen werden in 96-Loch-Platten ausgesät und für 1-2 Tage in Serum-haltigem Medium (D-MEM mit 10% FCS, 2 mM L-Glutamin und 15 mM HEPES, pH 7,4) in 5% CO₂ bei 37°C kultiviert. Zur Unterdrückung der c-fos Promotoraktivität auf Basalwerte werden die Zellen durch Serumentzug für 24 Stunden arretiert. Anschließend werden Testverbindungen zugesetzt, und die Zellen mit FCS oder Wachstumsfaktoren zur Induktion der Luciferaseaktivität stimuliert. Nach dieser Behandlungsperiode (4 Stunden) werden die Zellen lysiert und deren Extrakte für die Luciferasebestimmung eingesetzt. Die IC₅₀-Werte werden aus der Wirkstoffkonzentration errechnet, die bei sequentieller Verdünnung des Wirkstoffes die halbmaximale Hemmung der durch den jeweiligen Stimulus hervorgerufene Luciferaseaktivität bewirkt.

In-vivo-Untersuchungen zur Hemmung der vaskulären Glattmuskelzell-Proliferation im Modell der luftperfundierten Rattencarotis

Die in-vivo-Untersuchungen zur Hemmung der vaskulären Glattmuskelzell-Proliferation im Modell der luftperfundierten Rattencarotis erfolgten nach der leicht modifizierten Methode von Fishman et al. (Lab. Invest. 32, 339-351, 1975); die Operation der Tiere erfolgte unter Nembutal[®]-Anästhesie. Die rechte Arteria carotis communis wird freigelegt und mit zwei Gefäßklemmen in einem caudal zu cranialen Abstand von ca. 1,5 cm abgeklemmt. Eine Kanüle wird am cranialen Ende dieses Gefäßsegmentes eingeführt, das caudale Ende wird durch den Stich mit einer Nadel perforiert. Nach Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung wird ein Luftstrom (25 ml/min für 4 min) durch das Segment perfundiert. Anschließend werden die Klemmen entfernt, die Blutung wird unter leichtem Druck gestillt und das Operationfeld mit Wundklammern verschlossen. Die Tiere werden acht Tage nach der Operation getötet, und es werden die zuvor luftperfundierten wie auch zur Kontrolle die korrespondierenden contralateralen Carotidensegmente entnommen. Mit der Applikation der Testsubstanzen (p.o., i.v., i.p., s.c.) wurde zwei Tage vor der Operation begonnen, die Behandlung erfolgte dann über den gesamten Versuchszeitraum (Behandlungsdauer insgesamt: 10 Tage).

Die luftinduzierte Glattmuskelzellproliferation erfolgte mittels Bestimmung des DNA-Gehaltes der Carotidensegmente nach Helms et al. (DNA 43, 39-49, 1985). Dazu werden die Gefäßstücke mit Proteinase K enzymatisch verdaut, die DNA wird isoliert und mit Bisbenzimid fluorometrisch bestimmt (DNA aus Heringssperma als Standard). Der DNA-Gehalt der Gefäße wird schließlich in μg DNA pro mm Carotide angegeben.

Zur Feststellung der antiproliferativen Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen wird Ratten ein Ballonkatheter in die Halsschlagader eingeführt, dieser aufgeblasen und die Innenseite des Blutgefäßes durch Bewegen des Katheters verletzt [Clowes A.W., et al., Lab. Invest. Vol. 49, No. 3, p. 327, 1983]. Diese Schädigung bewirkt eine neointimale Glattmuskelproliferation, die Stenosen verursacht. Das Ausmaß der Gefäßeinengen bei den Tieren wird nach ca. 2 Wochen durch histologische Aufarbeitung der Blutgefäße bestimmt, indem an Gefäßquerschnitten die Flächen des Proliferationsgewebes vermessen wird

Die neuen Wirkstoffe können in bekannter Weise in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Tabletten, Dragees, Pillen, Granulate, Aerosole, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen, unter Verwendung inerter, nichttoxischer, pharmazeutisch geeigneter Trägerstoffe oder Lösemittel. Hierbei soll die therapeutisch wirksame Verbindung jeweils in einer Konzentration von etwa 0,5 bis 90 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein, d.h. in Mengen, die ausreichend sind, um den angegebenen Dosierungsspielraum zu erreichen.

Die Formulierungen werden beispielsweise hergestellt durch Verstrecken der Wirkstoffe mit Lösemitteln und/oder Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, wobei z.B. im Fall der Benutzung von Wasser als Verdünnungsmittel gegebenenfalls organische Lösemittel als Hilfslösemittel verwendet werden können.

Die Applikation erfolgt in üblicher Weise, vorzugsweise oral oder parenteral, insbesondere perlingual oder intravenös.

Für den Fall der parenteralen Anwendung können Lösungen des Wirkstoffs unter Verwendung geeigneter flüssiger Trägermaterialien eingesetzt werden.

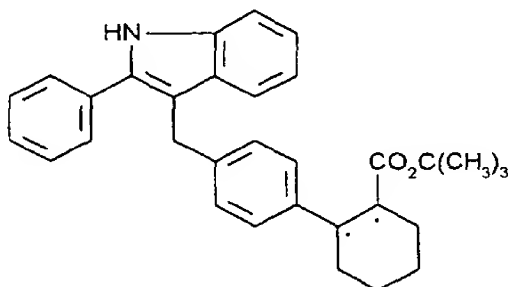
Im allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei intravenöser Applikation Mengen von etwa 0,001 bis 20 mg/kg, vorzugsweise etwa 0,01 bis 5 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen, und bei oraler Applikation beträgt die Dosierung etwa 0,01 bis 50 mg/kg, vorzugsweise 1 bis 10 mg/kg Körpergewicht.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit vom Körpergewicht bzw. der Art des Applikationsweges, vom individuellen Verhalten gegenüber dem Medikament, der Art von dessen Formulierung und dem Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muß. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Ausgangsverbindungen

Beispiel I

trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)-phenyl]cyclohexan-1-carbonsäure-tert.butylester



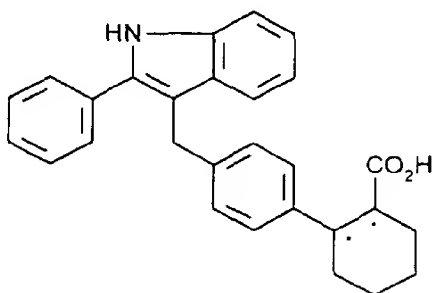
2,8 g (25 mMol) Kalium-tert.butylat werden bei 0°C in 20 ml DMF tropfenweise mit einer Lösung von 5,1 g (25 mMol) 2-Phenylindol versetzt und 30 min gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 13,4 g (25 mMol, 60%ig) trans-2-(p-Brommethylphenyl)cyclohexan-1-carbonsäure-tert.butylester in 130 ml DMF innerhalb von 30 min zugegeben und über Nacht auf Raumtemperatur gebracht. Nach Einengen wird in Et₂O/H₂O aufgenommen, vom Niederschlag abgetrennt

und dreimal mit Et₂O extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Einengen wird das Produkt über Kieselgel 60 (Petrolether / Essigester = 10/1) gereinigt.

Ausbeute: 2,21 g (19% d.Th.)
R_f = 0,27 (PE / EE = 10/1)

Beispiel II

trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)-phenyl]-cyclohexan-1-carbonsäure

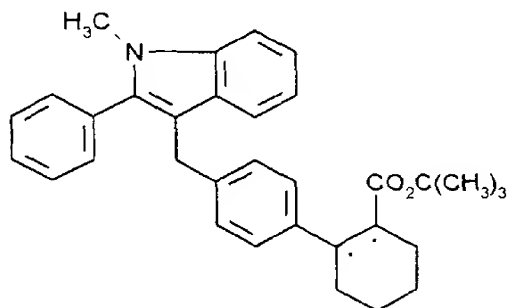


2,2 g (4,7 mMol) der Verbindung aus Beispiel I werden in 15 ml CH₂Cl₂ mit 15 ml Trifluoressigsäure 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen wird erneut zweimal mit Et₂O versetzt, eingeeengt, in Et₂O wieder aufgenommen, einmal mit 0,5 N NaOH und zweimal mit H₂O (pH 5) extrahiert. Die vereinigten Wasserphasen werden mit 1 N Essigsäure auf pH 4 gestellt und zweimal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigesterphasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt.

Ausbeute: 1,8 g (100% d.Th.)
R_f = 0,31 (CH₂Cl₂ / MeOH / NH₃ = 9/1/0,1)

Beispiel III

trans-2-[4-(1-Methyl-2-phenylindol-3-yl-methyl)-phenyl]cyclohexan-1-carbonsäure-tert.butylester



0,4 g (13,2 mmol) NaH (80%) wird in 20 ml DMF suspendiert, auf 0°C gekühlt und tropfenweise mit einer Lösung von 5,6 g (12 mmol) der Ausgangsverbindung aus Beispiel I in 50 ml DMF versetzt. Nach 30 min Rühren werden 2,0 g (14,4 mmol) MeI zugetropft. Nach 1 h Rühren bei 0°C wird auf RT langsam erwärmt und noch 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird vorsichtig mit Wasser versetzt und dreimal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, eingeeengt, und das Produkt wird aus Kieselgel 60

(Petrolether / Essigester = 10/1) chromatographiert.

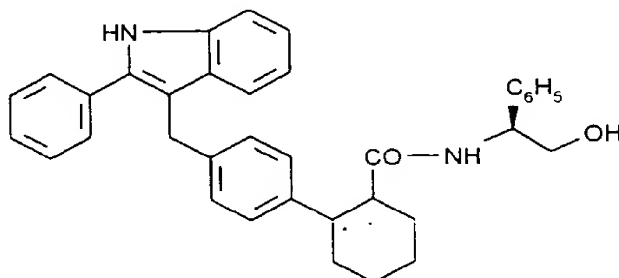
Ausbeute: 1,2 g (40% d.Th.)

$R_f = 0.47$ (PE/EE = 10/1)

Herstellungsbeispiele

Beispiel 1

trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)phenyl]-cyclohexan-1-carbonyl-(L-phenylglycinolamid)



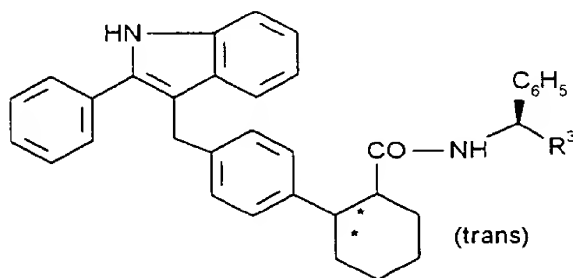
0,14 g (1 mMol) L-Phenylglycinol wird unter Argon in 10 ml CH_2Cl_2 mit 0,41 g (1 mMol) der Verbindung aus Beispiel II und 0,16 g 1-Hydroxy-1H-benzotriazol versetzt, auf -10°C gekühlt, anschließend mit 0,3 ml Triethylamin (2 mMol) und 0,23 g (1,2 mMol) N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid-hydrochlorid versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Verdünnen mit CH_2Cl_2 wird mit NH_4Cl , NaHCO_3 , H_2O und NaCl extrahiert, über Na_2SO_4 getrocknet, eingengt und über Kieselgel 60 (CH_2Cl_2 / EtOH = 100/5) gereinigt.

Ausbeute: 85,4 mg trans dia B (51,6% d.Th.)

$R_f = 0.44$ (CH_2Cl_2 / MeOH = 95/5)

In Analogie zur Vorschrift des Beispiels 1 wird die in der Tabelle 1 aufgeführten Verbindung hergestellt:

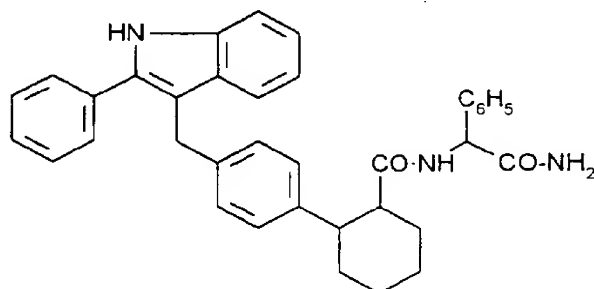
Tabelle 1:



Bsp.-Nr.	R^3	Isomer	R_f (LM)
2	CH_2OH	trans dia A (S)	0,73 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95/5$)

Beispiel 3

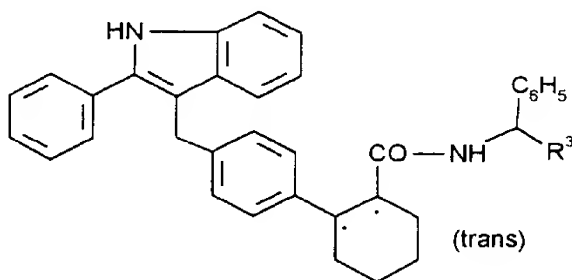
trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)phenyl]-cyclohexan-1-carbonyl-(phenylglycinamido)amid



0,16 g (1 mMol) Phenylglycinamid wird in 10 ml CH₂Cl₂ suspendiert, mit 0,41 g (0,1 mMol) der Verbindung aus Beispiel II und 0,16 g (1,1 mMol) 1-Hydroxy-1H-benzotriazol versetzt, auf -10°C abgekühlt und nach Zugabe von 0,3 ml Triethylamin und 0,3 g N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid-hydrochlorid über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Verdünnen mit CH₂Cl₂ wird mit NH₄Cl, NaHCO₃, H₂O und NaCl geschüttelt, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet, eingeeengt und das Produkt über Kieselgel 60 (CH₂Cl₂/EtOH/NH₃ = 100/5/0,1) gereinigt.

Ausbeute: 0,29 g trans dia B (51,6% d.Th.)
R_f = 0,3 (CH₂Cl₂ / MeOH = 95/5)

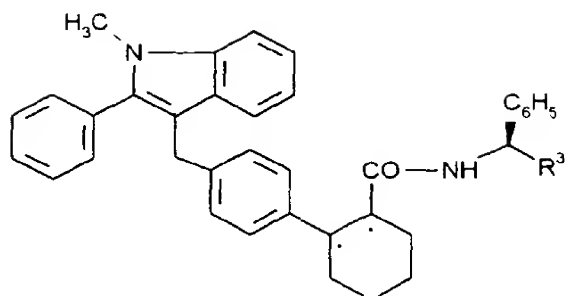
In Analogie zur Vorschrift des Beispiels 3 wird die in der Tabelle 2 aufgeführten Verbindung hergestellt:

Tabelle 2:

Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _f (LM)
4	CONH ₂	trans dia A	0,49 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH = 95/5)

In Analogie zur Herstellung der Beispiele 1 und 2 werden die in der Tabelle 3 aufgeführten Verbindungen hergestellt:

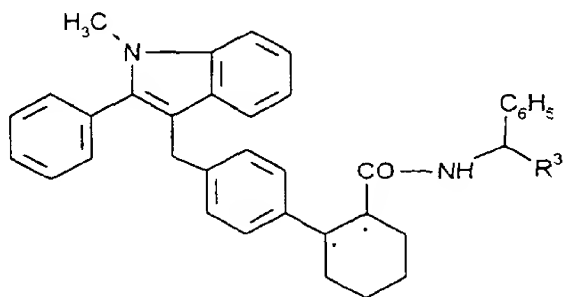
Tabelle 3:



Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _f (LM)
5	CH ₂ OH	trans dia A (S)	0,59 (Toluol / EE = 1/1)
6	CH ₂ OH	trans dia B (S)	0,31 (Toluol / EE = 1/1)

In Analogie zur Herstellung der Beispiele 3 und 4 werden die in der Tabelle 4 aufgeführten Verbindungen hergestellt:

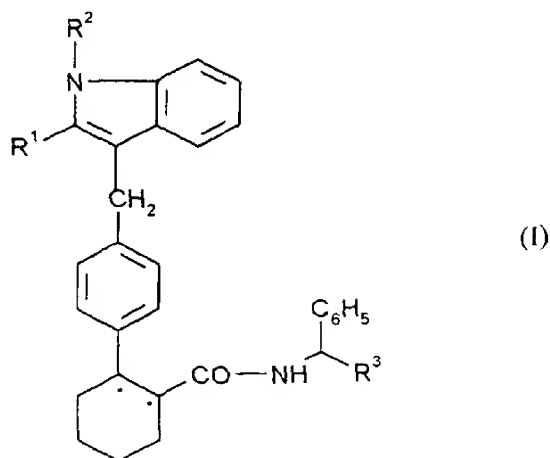
Tabelle 4:



Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _f (LM)
7	CONH ₂	trans dia A	0,33 (Toluol / EE = 1/1)
8	CONH ₂	trans dia B	0,15 (Toluol / EE = 1/1)

Patentansprüche

1. Substituierte Indol-Derivate der allgemeinen Formel (I)



in welcher

25 R¹ für Phenyl, Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen steht,

30 R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

35 2. Substituierte Indol-Derivate der Formel (I) nach Anspruch 1
in welcher

40 R¹ für Phenyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,

R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

45 und deren Salze.

3. Substituierte Indol-Derivate der Formel (I) nach Anspruch 1
in welcher

50 R¹ für Phenyl, Cyclopropyl, Ethyl, iso-Propyl oder n-Butyl steht,

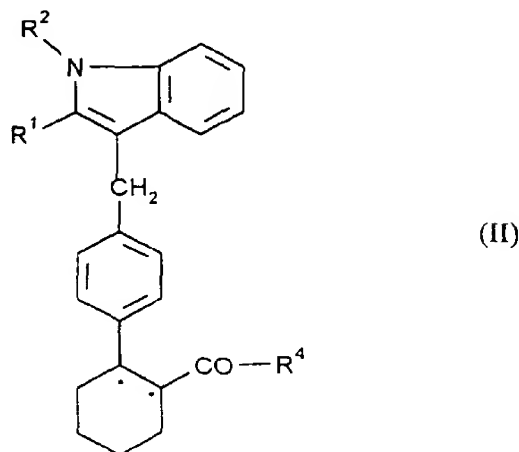
R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

55 R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

4. Substituierte Indol-Derivate nach Anspruch 1 bis 3 zur therapeutischen Anwendung.

5. Verfahren zur Herstellung von substituierten Indol-Derivaten nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



in welcher

25 R^1 und R^2 die angegebene Bedeutung haben,

und

30 R^4 für geradkettiges oder verzweigtes C_1 - C_4 -Alkoxy oder Hydroxy stehen

verseift und die Säure, gegebenenfalls unter vorgeschalteter Aktivierung, in inerten Lösemitteln, in Anwesenheit einer Base und/oder Dehydratisierungsmittel mit Phenylglycin-Derivaten der allgemeinen Formel (III)



45 in welcher

R^3 die angegebene Bedeutung hat,

umsetzt.

- 50 6. Arzneimittel enthaltend mindestens ein substituiertes Indol-Derivat nach Anspruch 1 bis 3.
7. Arzneimittel nach Anspruch 6 zur Behandlung von Arteriosklerose und Restenose.
- 55 8. Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln nach Anspruch 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß man die substituierten Indol-Derivate, gegebenenfalls mit geeigneten Hilfs- und Trägerstoffen in eine geeignete Applikationsform überführt.
9. Verwendung von substituierten Indol-Derivaten nach Anspruch 1 bis 3 zur Herstellung von Arzneimitteln.

EP 0 725 061 A1

10. Verwendung nach Anspruch 9 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Arteriosklerose und Restenose.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 96 10 0761

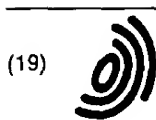
EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
A	DE-A-43 04 455 (BAYER AG) * Ansprüche 1,5,7-10 *	1,4,6-10	C07D209/18 C07D209/24 A61K31/40
A	EP-A-0 397 210 (KYORIN SEIYAKU K.K.) * Seite 3, Zeile 24 - Seite 4, Zeile 1 *	1	
A,P	DE-A-44 01 893 (BAYER AG) * Ansprüche 1,4,5,7-10 *	1,4,6-10	
A	WO-A-94 18968 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE) * Seite 4, erster Absatz; Seite 4, letzter Absatz bis Seite 5, Zeile 3 *	7,10	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			C07D
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort BERLIN		Abschlußdatum der Recherche 15.Mai 1996	Prüfer Hass, C
<p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>			

EPO FORM 150 (12/94) (PM/CU)

7

= 03 5,602,962

(F₂)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) EP 0 725 061 B1

(12) **EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT**

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Patenterteilung:
07.06.2000 Patentblatt 2000/23

(51) Int Cl.7: **C07D 209/18**, C07D 209/24,
A61K 31/40

(21) Anmeldenummer: 96100761.4

(22) Anmeldetag: 19.01.1996

(54) **Substituierte Indol-Derivate**

Substituted indole derivatives

Dérivés d'indole substitués

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC NL
PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
LT LV SI

(30) Priorität: 01.02.1995 DE 19503159
11.04.1995 DE 19513716

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
07.08.1996 Patentblatt 1996/32

(73) Patentinhaber: **BAYER AG**
51368 Leverkusen (DE)

(72) Erfinder:
• Müller-Gliemann, Matthias, Dr.
D-42697 Solingen (DE)
• Müller, Ulrich, Dr.
D-42111 Wuppertal (DE)
• Beuck, Martin, Dr.
Milford, CT 06460 (US)
• Zals, Sigfried, Dr.
D-42113 Wuppertal (DE)

- Gerdas, Christoph, Dr.
D-51373 Leverkusen (DE)
- Domdey-Bette, Anke, Dr.
D-42499 Hückeswagen (DE)
- Grützmann, Rudi, Dr.
D-42657 Solingen (DE)
- Lohmer, Stefan, Dr.
I-20133 Milano (IT)
- Wohlfell, Stefan, Dr.
D-40724 Hilden (DE)
- Yalkinoglu, Özkan, Dr.
D-42115 Wuppertal (DE)
- Elting, James, Dr.
Madison, CT 06443 (US)
- Denzer, Dirk, Dr.
D-42115 Wuppertal (DE)

(56) Entgegenhaltungen:
EP-A- 0 397 210 WO-A-94/18968
DE-A- 4 304 455 DE-A- 4 401 893

Bemerkungen:

Die Akte enthält technische Angaben, die nach dem
Eingang der Anmeldung eingereicht wurden und die
nicht in dieser Patentschrift enthalten sind.

EP 0 725 061 B1

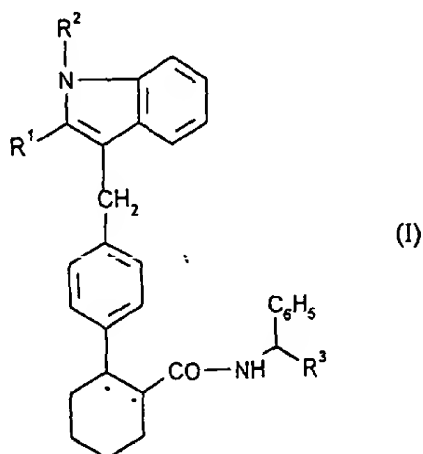
Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft Indol-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung in Arzneimitteln, insbesondere zur Behandlung der Arteriosklerose und der Restenose.

[0002] Die DE-A-4304455 offenbart antiarteriosklerotisch wirksame Indolderivate, die in 1-Position mit einer Cyclohexylphenylmethyl-Gruppe substituiert sind. Die EP-A-0397210 beschreibt Indolderivate, die in 2-Position mit substituierten Thiol-Resten substituiert sind und in Therapie und Prophylaxe von Hyperlipidämie und Arteriosklerose Einsatz finden. Die DE-A-4401893 betrifft antiarteriosklerotische Hamstoffderivate, die unter anderem Indolsubstituiert sein können. Ein Verfahren zur Behandlung von Arteriosklerose mit Imidazolderivaten wird in der WO-A-9418968 beschrieben.

[0003] Die vorliegende Erfindung betrifft substituierte Indol-Derivate der allgemeinen Formel (I)



in welcher

R¹ für Phenyl, Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen steht,

R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

[0004] Die erfindungsgemäßen substituierten Indol-Derivate können auch in Form ihrer Salze vorliegen. Im allgemeinen seien hier Salze mit organischen oder anorganischen Basen oder Säuren genannt.

[0005] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden physiologisch unbedenkliche Salze bevorzugt. Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen können Salze der erfindungsgemäßen Stoffe mit Mineralsäuren, Carbonsäuren oder Sulfonsäuren sein. Besonders bevorzugt sind z.B. Salze mit Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure oder Benzoesäure.

[0006] Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Metall- oder Ammoniumsalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sein, welche eine freie Carboxylgruppe besitzen. Besonders bevorzugt sind z.B. Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calciumsalze, sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak, oder organischen Aminen, wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Arginin, Lysin, Ethylendiamin oder 2-Phenylethylamin.

[0007] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in stereoisomeren Formen, die sich entweder wie Bild und Spiegelbild (Enantiomere), oder die sich nicht wie Bild und Spiegelbild (Diastereomere) verhalten, existieren. Die Erfindung betrifft sowohl die Enantiomere oder Diastereomere oder deren jeweiligen Mischungen. Die Racemformen

lassen sich ebenso wie die Diastereomeren in bekannter Weise in die stereoisomeren einheitlichen Bestandteile trennen.

[0008] Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),
in welcher

- 5 R¹ für Phenyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,
R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,
R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

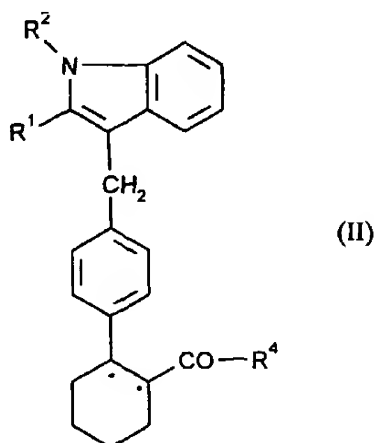
10 und deren Salze.

[0009] Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),
in welcher

- 15 R¹ für Phenyl, Cyclopropyl, Ethyl, iso-Propyl oder n-Butyl steht,
R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,
R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

20 [0010] Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) werden hergestellt, indem man Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



in welcher

45 R¹ und R² die angegebene Bedeutung haben,

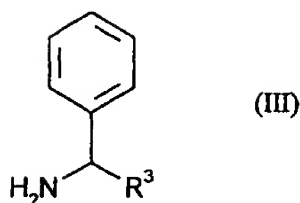
und

R⁴ für geradkettiges oder verzweigtes C₁-C₄-Alkoxy oder Hydroxy stehen

50 verseift und die Säure, gegebenenfalls unter vorgeschalteter Aktivierung, in inerten Lösemitteln, in Anwesenheit einer Base und/oder Dehydratisierungsmittel mit Phenylglycin-Derivaten der allgemeinen Formel (III)

55

5



10

in welcher

 R^3 die angegebene Bedeutung hat,

15

umsetzt.

[0011] Das erfindungsgemäße Verfahren kann durch folgendes Formelschema beispielhaft erläutert werden:

20

25

30

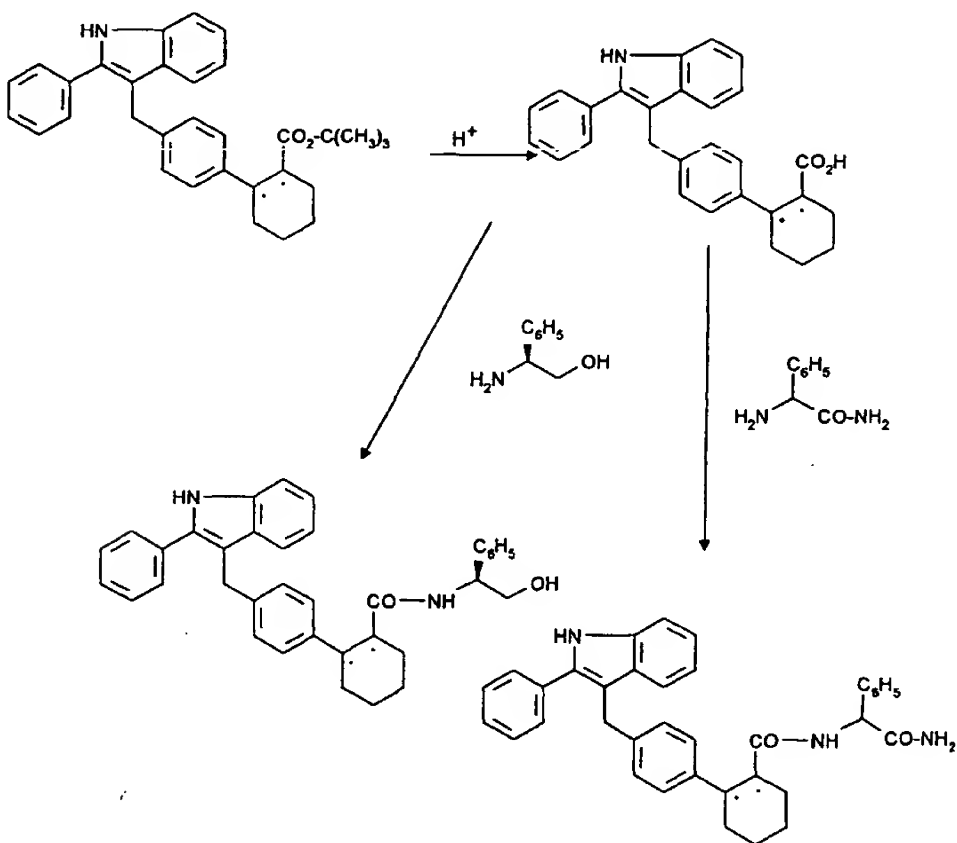
35

40

45

50

55



[0012] Als Lösemittel für das Verfahren eignen sich übliche organische Lösemittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören bevorzugt Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether, oder Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Dichlorethylen, Trichlorethylen oder Chlorbenzol, oder Essigester, Triethylamin, Pyridin, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Hexamethylphosphorsäuretriamid, Acetonitril, Aceton oder Nitromethan. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel zu verwenden. Bevorzugt sind Dichlormethan, Tetrahydrofuran und Dimethylformamid.

[0013] Als Basen für das erfindungsgemäße Verfahren können im allgemeinen anorganische oder organische Basen

eingesetzt werden. Hierzu gehören vorzugsweise Alkalihydroxide wie zum Beispiel Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid, Erdalkalihydroxide wie zum Beispiel Bariumhydroxid, Alkalicarbonat wie Natriumcarbonat, Kaliumcarbonat oder Cäsiumcarbonat, Erdalkalicarbonat wie Calciumcarbonat, oder Alkali- oder Erdalkalialkoholate wie Natrium- oder Kaliummethanolat, Natrium- oder Kaliummethanolat oder Kalium-tert.butylat, oder organische Amine (Trialkyl(C₁-C₆)amine) wie Triethylamin, oder Heterocyclen wie 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO), 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), Pyridin, Diaminopyridin, Methylpiperidin oder Morpholin. Es ist auch möglich, als Basen Alkalimetalle wie Natrium oder deren Hydride wie Natriumhydrid einzusetzen. Bevorzugt sind Natriumhydrid, Kaliumcarbonat, Triethylamin, Trimethylamin, Pyridin, Kalium-tert.butylat, DBU oder DABCO.

[0014] Im allgemeinen setzt man die Base in einer Menge von 0,05 Mol bis 10 Mol, bevorzugt von 1 Mol bis 2 Mol bezogen auf 1 Mol der Verbindung der Formel (II) ein.

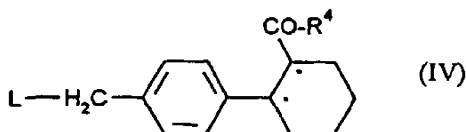
[0015] Das erfindungsgemäße Verfahren wird im allgemeinen in einem Temperaturbereich von -50°C bis +100°C, bevorzugt von -30°C bis +60°C, durchgeführt.

[0016] Das erfindungsgemäße Verfahren wird im allgemeinen bei Normaldruck durchgeführt. Es ist aber auch möglich, das Verfahren bei Überdruck oder bei Unterdruck durchzuführen (z.B. in einem Bereich von 0,5 bis 5 bar).

[0017] Die Amidierung kann gegebenenfalls über die aktivierte Stufe der Säurehalogenide oder gemischter Anhydride, die aus den entsprechenden Säuren durch Umsetzung mit Thionylchlorid, Phosphortrichlorid, Phosphorpentachlorid, Phosphortribromid oder Oxalylchlorid oder Methansulfonsäurechlorid hergestellt werden können, verlaufen.

[0018] Als Dehydratisierungsreagenzien eignen sich Carbodiimide wie beispielsweise Diisopropylcarbodiimid, Dicyclohexylcarbodiimid oder N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimidazol oder 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfonat oder Propanphosphonsäureanhydrid oder Isobutylchloroformat oder Benzotriazolyl-oxy-tris-(dimethylamino)phosphonium-hexafluorophosphat oder Phosphorsäurediphenylesteramid oder Methansulfonsäurechlorid, gegebenenfalls in Anwesenheit von Basen wie Triethylamin oder N-Ethylmorpholin oder N-Methylpiperidin oder Dicyclohexylcarbodiimid und N-Hydroxysuccinimid.

[0019] Die Verbindungen der Formel (II) sind neu und werden hergestellt indem man, Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)



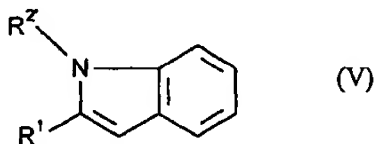
in welcher

L für eine typische Abgangsgruppe wie beispielsweise Chlor, Brom, Jod, Tosylat oder Mesylat, vorzugsweise für Brom, steht

und

R⁴ für geradkettiges oder verzweigtes C₁-C₄-Alkoxy oder Carboxy steht,

zunächst mit Verbindungen der allgemeinen Formel (V)



in welcher

R¹ die oben angegebene Bedeutung hat,

und

R^{2'} für Wasserstoff steht,

- 5 in inerten Lösemitteln, gegebenenfalls in Anwesenheit einer Base, umgesetzt und im Fall R² ≠ H eine Alkylierung nach üblichen Methoden anschließt.

[0020] Als Lösemittel, Basen können die oben angegebenen Lösemittel und Basen verwendet werden; bevorzugt sind Dimethylformamid und Kalium-tert.butylat.

- 10 [0021] Die Alkylierung erfolgt im allgemeinen in einem der oben aufgeführten Lösemittel, vorzugsweise Dimethylformamid mit C₁-C₈-Alkylhalogeniden, vorzugsweise Jodiden, in einem Temperaturbereich von 0°C bis Raumtemperatur und Normaldruck.

[0022] Die Verbindungen der Formeln (III), (IV) und (V) sind an sich bekannt.

[0023] Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches Wirkspektrum.

- 15 [0024] Überraschenderweise inhibieren sie die Proliferation von glatten Muskelzellen. Sie können deshalb zur Behandlung der Arteriosklerose und der Restenose eingesetzt werden.

Untersuchung zur Inhibition der Proliferation glatter Muskelzellen durch die erfindungsgemäßen Verbindungen

- 20 [0025] Zur Feststellung der antiproliferativen Wirkung der Verbindungen werden glatte Muskelzellen verwendet, die aus den Aorten von Schweinen durch die Media-Explantat-Technik gewonnen werden [R. Foss, J. Cell. Biol. 50, 172, 1971]. Die Zellen werden in geeigneten Kulturschalen, in der Regel 96-Loch-Platten, ausgesät und für 2 - 3 Tage in Medium 199 mit 7,5% FCS und 7,5% NCS, 2 mM L-Glutamin und 15 mM HEPES, pH 7,4 in 5% CO₂ bei 37°C kultiviert. Danach werden die Zellen durch Serumentzug für 2 - 3 Tage synchronisiert und sodann mit Serum oder anderen
- 25 Faktoren zum Wachstum angeregt. Gleichzeitig werden Testverbindungen zugesetzt. Nach 16 - 20 Stunden wird ³H-Thymidin zugefügt und nach weiteren 4 Stunden der Einbau dieser Substanz in die TCA-präzipitierbare DNA der Zellen bestimmt. Zur Bestimmung der IC₅₀-Werte wird die Wirkstoffkonzentration errechnet, die bei sequentieller Verdünnung des Wirkstoffes halbmaximale Hemmung der durch 10% FCS hervorgerufene Thymidinkinorporation bewirkt.

30

Tabelle A

Beispiel-Nr.	IC ₅₀ (nM)
3	0,02

- 35 Untersuchungen zur Inhibition der c-fos Genexpression glatter Muskelzellen durch die erfindungsgemäßen Verbindungen

- [0026] Die antiproliferative Wirkung der Verbindungen wurde hinsichtlich der Serum- und Wachstumsfaktor-vermittelten Signaltransduktion und Induktion der c-fos Genexpression in Glattmuskelzell-Reporterlinien untersucht. Als Reporter dient hierbei die Luciferase, dessen Expression über den humanen c-fos Promotor gesteuert wird. Das c-fos Promotor/Luciferasekonstrukt ist stabil in die chromosomale DNA der Ratten-Glattmuskelzelllinie A 10 (ATCC CRL 1476) integriert. Die Reporterzellen werden in 96-Loch-Platten ausgesät und für 1-2 Tage in Serum-haltigem Medium (D-MEM mit 10% FCS, 2 mM L-Glutamin und 15 mM HEPES, pH 7,4) in 5% CO₂ bei 37°C kultiviert. Zur Unterdrückung der c-fos Promotoraktivität auf Basalwerte werden die Zellen durch Serumentzug für 24 Stunden arretiert. Anschließend
- 40 werden Testverbindungen zugesetzt, und die Zellen mit FCS oder Wachstumsfaktoren zur Induktion der Luciferaseaktivität stimuliert. Nach dieser Behandlungsperiode (4 Stunden) werden die Zellen lysiert und deren Extrakte für die Luciferasebestimmung eingesetzt. Die IC₅₀-Werte werden aus der Wirkstoffkonzentration errechnet, die bei sequentieller Verdünnung des Wirkstoffes die halbmaximale Hemmung der durch den jeweiligen Stimulus hervorgerufene Luciferaseaktivität bewirkt.
- 45

50

In-vivo-Untersuchungen zur Hemmung der vaskulären Glattmuskelzell-Proliferation im Modell der luftperfundierten Rattencarotis

- [0027] Die in-vivo-Untersuchungen zur Hemmung der vaskulären Glattmuskelzell-Proliferation im Modell der luftperfundierten Rattencarotis erfolgten nach der leicht modifizierten Methode von Fishman et al. (Lab. Invest. 32, 339-351, 1975); die Operation der Tiere erfolgte unter Nembutal[®]-Anästhesie. Die rechte Arteria carotis communis wird freigelegt und mit zwei Gefäßklemmen in einem caudal zu cranialen Abstand von ca. 1,5 cm abgeklemmt. Eine Kanüle wird am cranialen Ende dieses Gefäßsegmentes eingeführt, das caudale Ende wird durch den Stich mit einer
- 55

Nadel perforiert. Nach Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung wird ein Luftstrom (25 ml/min für 4 min) durch das Segment perfundiert. Anschließend werden die Klemmen entfernt, die Blutung wird unter leichtem Druck gestillt und das Operationsfeld mit Wundklammern verschlossen. Die Tiere werden acht Tage nach der Operation getötet, und es werden die zuvor luftperfundierten wie auch zur Kontrolle die korrespondierenden contralateralen Carotidensegmente

5 entnommen.

Mit der Applikation der Testsubstanzen (p.o., i.v., i.p., s.c.) wurde zwei Tage vor der Operation begonnen, die Behandlung erfolgte dann über den gesamten Versuchszeitraum (Behandlungsdauer insgesamt: 10 Tage).

Die luftinduzierte Glattmuskulzellproliferation erfolgte mittels Bestimmung des DNA-Gehaltes der Carotidensegmente nach Helms et al. (DNA 43, 39-49, 1985). Dazu werden die Gefäßstücke mit Proteinase K enzymatisch verdaut, die

10 DNA wird isoliert und mit Bisbenzimid fluorometrisch bestimmt (DNA aus Heringssperma als Standard). Der DNA-Gehalt der Gefäße wird schließlich in µg DNA pro mm Carotide angegeben.

[0028] Zur Feststellung der antiproliferativen Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen wird Ratten ein Ballonkatheter in die Halsschlagader eingeführt, dieser aufgeblasen und die Innenseite des Blutgefäßes durch Bewegen des Katheters verletzt [Clowes A.W., et al., Lab. Invest. Vol. 49, No. 3, p. 327, 1983]. Diese Schädigung bewirkt eine

15 neointimale Glattmuskulzellproliferation, die Stenosen verursacht. Das Ausmaß der Gefäßverengungen bei den Tieren wird nach ca. 2 Wochen durch histologische Aufarbeitung der Blutgefäße bestimmt, indem an Gefäßquerschnitten die Flächen des Proliferationsgewebes vermessen wird.

[0029] Die neuen Wirkstoffe können in bekannter Weise in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Tabletten, Dragees, Pillen, Granulate, Aerosole, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen, unter Verwendung

20 inerter, nichttoxischer, pharmazeutisch geeigneter Trägerstoffe oder Lösemittel. Hierbei soll die therapeutisch wirksame Verbindung jeweils in einer Konzentration von etwa 0,5 bis 90 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein, d.h. in Mengen, die ausreichend sind, um den angegebenen Dosierungsspielraum zu erreichen.

[0030] Die Formulierungen werden beispielsweise hergestellt durch Verstrecken der Wirkstoffe mit Lösemitteln und/oder Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, wobei z.B. im

25 Fall der Benutzung von Wasser als Verdünnungsmittel gegebenenfalls organische Lösemittel als Hilfslösemittel verwendet werden können.

[0031] Die Applikation erfolgt in üblicher Weise, vorzugsweise oral oder parenteral, insbesondere perlingual oder intravenös.

[0032] Für den Fall der parenteralen Anwendung können Lösungen des Wirkstoffs unter Verwendung geeigneter

30 flüssiger Trägermaterialien eingesetzt werden.

[0033] Im allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei intravenöser Applikation Mengen von etwa 0,001 bis 20mg/kg, vorzugsweise etwa 0,01 bis 5mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen, und bei oraler Applikation beträgt die Dosierung etwa 0,01 bis 50mg/kg, vorzugsweise 1 bis 10 mg/kg Körpergewicht.

[0034] Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit vom Körpergewicht bzw. der Art des Applikationsweges, vom individuellen Verhalten gegenüber dem

35 Medikament, der Art von dessen Formulierung und dem Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muß. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

40

45

50

55

AusgangsverbindungenBeispiel I

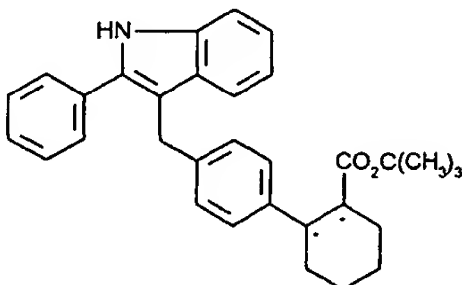
5 trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)-phenyl]cyclohexan-1-carbonsäuretert.butylester

[0035]

10

15

20



25

[0036] 2,8 g (25 mMol) Kalium-tert.butylat werden bei 0°C in 20 ml DMF tropfenweise mit einer Lösung von 5,1 g (25 mMol) 2-Phenylindol versetzt und 30 min gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 13,4 g (25 mMol, 60%ig) trans-2-(p-Brommethylphenyl)cyclohexan-1-carbonsäure-tert.butylester in 130 ml DMF innerhalb von 30 min zuge-

25

Ausbeute: 2,21 g (19% d.Th.)
 $R_f = 0,27$ (PE / EE = 10/1)

30

Beispiel II

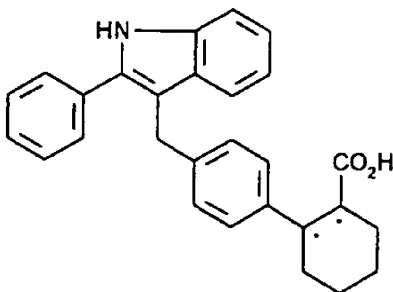
trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)-phenyl]-cyclohexan-1-carbonsäure

35

[0037]

40

45



50

[0038] 2,2 g (4,7 mMol) der Verbindung aus Beispiel I werden in 15 ml CH_2Cl_2 mit 15 ml Trifluoressigsäure 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen wird erneut zweimal mit Et_2O versetzt, eingeeengt, in Et_2O wieder aufgenommen, einmal mit 0,5 N NaOH und zweimal mit H_2O (pH 5) extrahiert. Die vereinigten Wasserphasen werden mit 1 N Essigsäure auf pH 4 gestellt und zweimal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigesterphasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt.

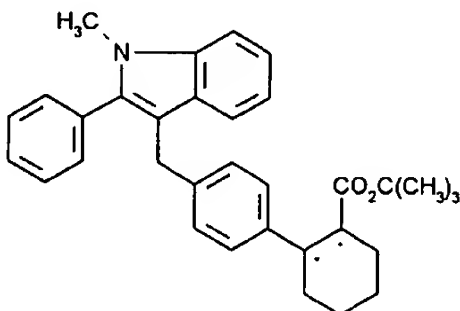
55

Ausbeute: 1,8 g (100% d.Th.)
 $R_f = 0,31$ (CH_2Cl_2 / MeOH / NH_3 = 9/1/0,1)

Beispiel III

trans-2-[4-(1-Methyl-2-phenylindol-3-yl-methyl)-phenyl]cyclohexan-1-carbonsäuretert.butylester

[0039]

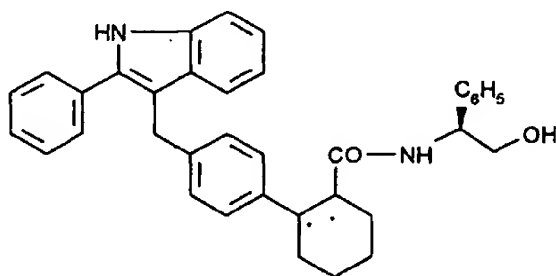


[0040] 0,4 g (13,2 mmol) NaH (80%) wird in 20 ml DMF suspendiert, auf 0°C gekühlt und tropfenweise mit einer Lösung von 5,6 g (12 mmol) der Ausgangsverbindung aus Beispiel I in 50 ml DMF versetzt. Nach 30 min Rühren werden 2,0 g (14,4 mmol) MeI zugetropft. Nach 1 h Rühren bei 0°C wird auf RT langsam erwärmt und noch 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird vorsichtig mit Wasser versetzt und dreimal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, eingeeengt, und das Produkt wird aus Kieselgel 60 (Petrolether / Essigester = 10/1) chromatographiert. Ausbeute: 1,2 g (40% d.Th.) R_f = 0.47 (PE/EE = 10/1)

Herstellungsbeispiele**Beispiel 1**

trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)phenyl]-cyclohexan-1-carbonyl-(L-phenylglycinolamid)

[0041]

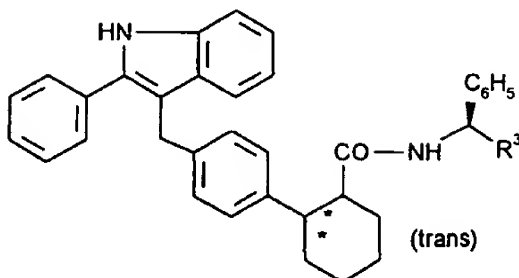


[0042] 0,14 g (1 mMol) L-Phenylglycinol wird unter Argon in 10 ml CH₂Cl₂ mit 0,41 g (1 mMol) der Verbindung aus Beispiel II und 0,16 g 1-Hydroxy-1H-benzotriazol versetzt, auf -10°C gekühlt, anschließend mit 0,3 ml Triethylamin (2 mMol) und 0,23 g (1,2 mMol) N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid-hydrochlorid versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Verdünnen mit CH₂Cl₂ wird mit NH₄Cl, NaHCO₃, H₂O und NaCl extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet, eingeeengt und über Kieselgel 60 (CH₂Cl₂ / EtOH = 100/5) gereinigt.

Ausbeute: 85,4 mg trans dia B (51,6% d.Th.)
R_f = 0,44 (CH₂Cl₂ / MeOH = 95/5)

[0043] In Analogie zur Vorschrift des Beispiels 1 wird die in der Tabelle 1 aufgeführten Verbindung hergestellt:

Tabelle 1:

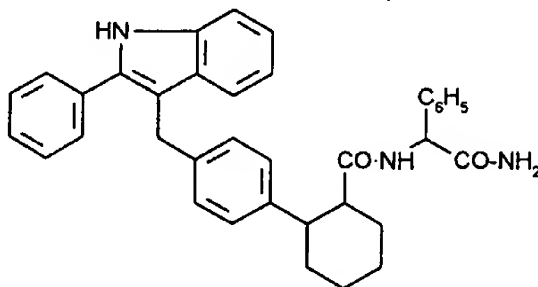


Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _f (LM)
2	CH ₂ OH	trans dia A (S)	0,73 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH = 95/5)

Beispiel 3

trans-2-[4-(2-Phenylindol-3-yl-methyl)phenyl]-cyclohexan-1-carbonyl-(phenylglycinamido)amid

[0044]

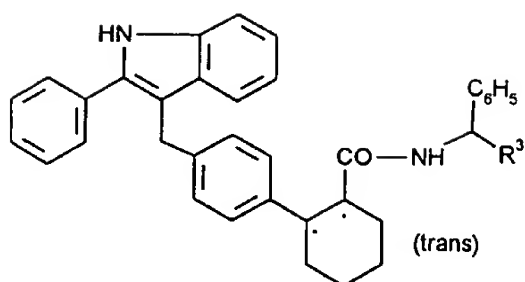


[0045] 0,16 g (1 mMol) Phenylglycinamid wird in 10 ml CH₂Cl₂ suspendiert, mit 0,41 g (0,1 mMol) der Verbindung aus Beispiel II und 0,16 g (1,1 mMol) 1-Hydroxy-1H-benzotriazol versetzt, auf -10°C abgekühlt und nach Zugabe von 0,3 ml Triethylamin und 0,3 g N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid-hydrochlorid über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Verdünnen mit CH₂Cl₂ wird mit NH₄Cl, NaHCO₃, H₂O und NaCl geschüttelt, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet, eingedunstet und das Produkt über Kieselgel 60 (CH₂Cl₂/EtOH/NH₃ = 100/5/0,1) gereinigt.

Ausbeute: 0,29 g trans dia B (51,6% d.Th.)
R_f = 0,3 (CH₂Cl₂ / MeOH = 95/5)

[0046] In Analogie zur Vorschrift des Beispiels 3 wird die in der Tabelle 2 aufgeführten Verbindung hergestellt:

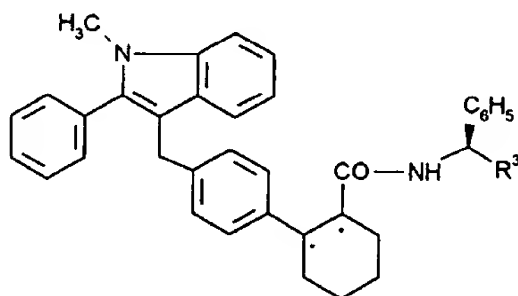
Tabelle 2:



Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _f (LM)
4	CONH ₂	trans dia A	0,49 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH = 95/5)

[0047] In Analogie zur Herstellung der Beispiele 1 und 2 werden die in der Tabelle 3 aufgeführten Verbindungen hergestellt:

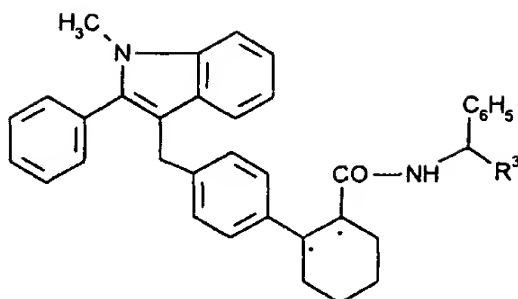
Tabelle 3:



Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _f (LM)
5	CH ₂ OH	trans dia A (S)	0,59 (Toluol / EE = 1/1)
6	CH ₂ OH	trans dia B (S)	0,31 (Toluol / EE = 1/1)

[0048] In Analogie zur Herstellung der Beispiele 3 und 4 werden die in der Tabelle 4 aufgeführten Verbindungen hergestellt:

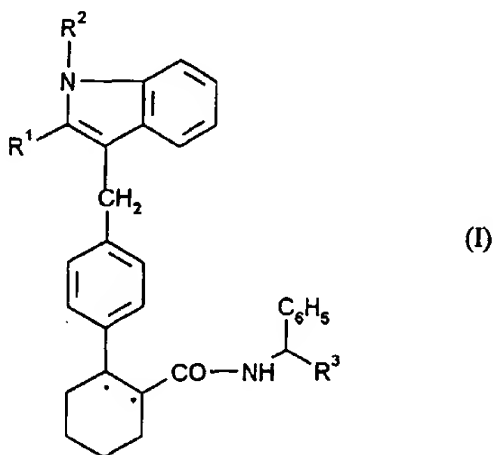
Tabelle 4:



Bsp.-Nr.	R ³	Isomer	R _T (LM)
7	CONH ₂	trans dia A	0,33 (Toluol / EE = 1/1)
8	CONH ₂	trans dia B	0,15 (Toluol / EE = 1/1)

Patentansprüche

1. Substituierte Indol-Derivate der allgemeinen Formel (I)



in welcher

R¹ für Phenyl, Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen steht,

R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

2. Substituierte Indol-Derivate der Formel (I) nach Anspruch 1
in welcher

R¹ für Phenyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder geradkettiges oder für verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,

R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

3. Substituierte Indol-Derivate der Formel (I) nach Anspruch 1 in welcher

R¹ für Phenyl, Cyclopropyl, Ethyl, iso-Propyl oder n-Butyl steht,

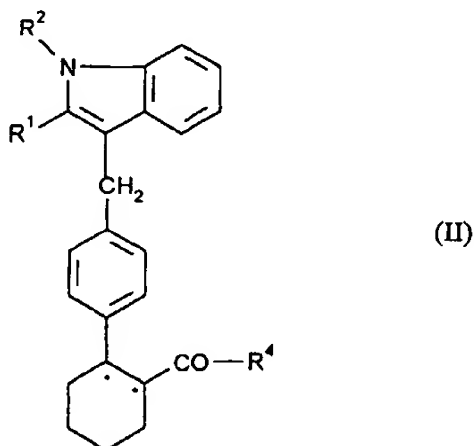
R² für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen oder Wasserstoff steht,

R³ für einen Rest der Formel -CO-NH₂ oder -CH₂-OH steht,

und deren Salze.

4. Substituierte Indol-Derivate nach Anspruch 1 bis 3 zur therapeutischen Anwendung.

5. Verfahren zur Herstellung von substituierten Indol-Derivaten nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



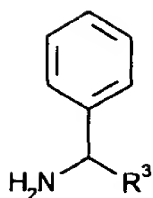
in welcher

R¹ und R² die angegebene Bedeutung haben,

und

R⁴ für geradkettiges oder verzweigtes C₁-C₄-Alkoxy oder Hydroxy stehen

verseift und die Säure, gegebenenfalls unter vorgeschalteter Aktivierung, in inerten Lösemitteln, in Anwesenheit einer Base und/oder Dehydratisierungsmittel mit Phenylglycin-Derivaten der allgemeinen Formel (III)



(III)

5

10

in welcher

 R^3 die angegebene Bedeutung hat,

umsetzt.

15

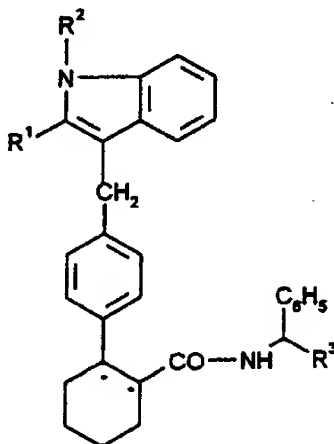
6. Arzneimittel enthaltend mindestens ein substituiertes Indol-Derivat nach Anspruch 1 bis 3.
7. Arzneimittel nach Anspruch 6 zur Behandlung von Arteriosklerose und Restenose.
8. Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln nach Anspruch 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß man die substituierten Indol-Derivate, gegebenenfalls mit geeigneten Hilfs- und Trägerstoffen in eine geeignete Applikationsform überführt.
9. Verwendung von substituierten Indol-Derivaten nach Anspruch 1 bis 3 zur Herstellung von Arzneimitteln.
10. Verwendung nach Anspruch 9 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Arteriosklerose und Restenose.

25

30 **Claims**

1. Substituted indole derivatives of the general formula (I)

35



(I)

40

45

50

in which

55

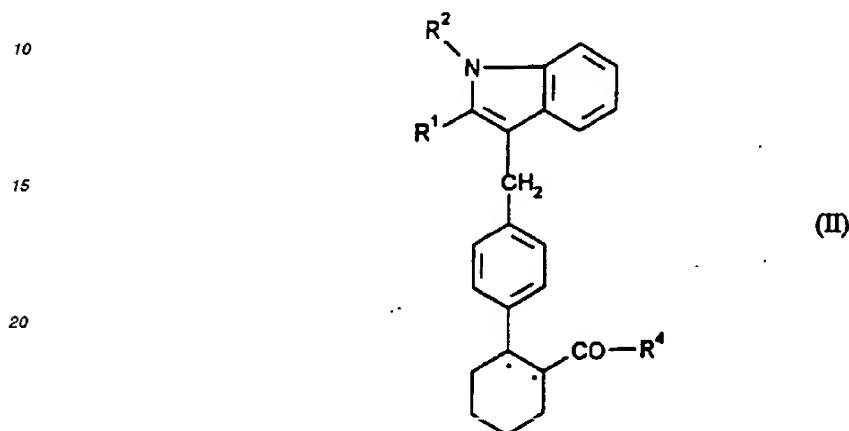
R^1 represents phenyl, cycloalkyl having 3 to 6 carbon atoms or straight-chain or branched alkyl having up to 5 carbon atoms,

R^2 represents straight-chain or branched alkyl having up to 8 carbon atoms, or hydrogen,

R^3 represents a radical of the formula $-CO-NH_2$ or $-CH_2-OH$,

2. Substituted indole derivatives according to Claims 1 to 3 for therapeutic use.

5 3. Process for the preparation of substituted indole derivatives according to Claims 1 to 3, characterized in that compounds of the general formula (II)



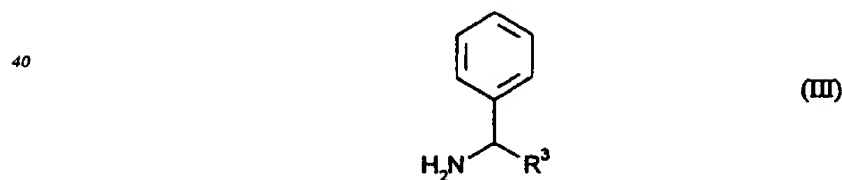
in which

R^1 and R^2 have the meaning indicated,

30 and

R^4 represents straight-chain or branched C_1-C_4 -alkoxy or hydroxyl

35 are hydrolysed and the acid, if appropriate with prior activation, is reacted in inert solvents, in the presence of a base and/or dehydrating agent, with phenylglycine derivatives of the general formula (III)



in which

R^3 has the meaning indicated.

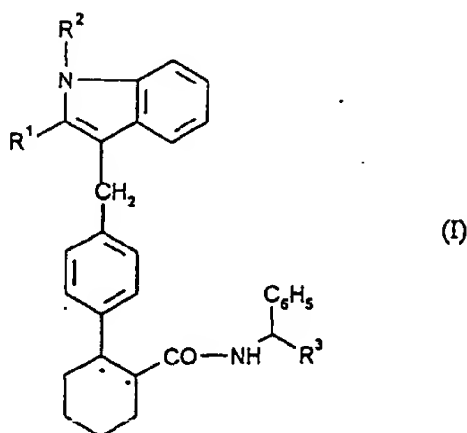
- 50
4. Medicaments containing at least one substituted indole derivative according to Claims 1 to 3.
 5. Medicaments according to Claim 6 for the treatment of arteriosclerosis and restenosis.
 - 55 6. Process for the production of medicaments according to Claims 6 and 7, characterized in that the substituted indole derivatives are converted into a suitable administration form, if appropriate using suitable auxiliaries and excipients.
 7. Use of substituted indole derivatives according to Claims 1 to 3 for the production of medicaments.

.

8. Use according to Claim 9 for the production of medicaments for the treatment of arteriosclerosis and restenosis.

Revendications

1. Dérivés d'indoles substitués répondant à la formule générale (I)



dans laquelle

R¹ représente un groupe phényle, un groupe cycloalkyle contenant de 3 à 6 atomes de carbone ou un groupe alkyle à chaîne droite ou ramifiée contenant jusqu'à 5 atomes de carbone,

R² représente un groupe alkyle à chaîne droite ou ramifiée contenant jusqu'à 8 atomes de carbone ou représente un atome d'hydrogène,

R³ représente un radical répondant à la formule -CO-NH₂ ou -CH₂-OH,

et leurs sels.

2. Dérivés d'indoles substitués répondant à la formule (I) selon la revendication 1, dans lesquels

R¹ représente un groupe phényle, un groupe cyclopropyle, un groupe cyclopentyle, un groupe cyclohexyle ou un groupe alkyle à chaîne droite ou ramifiée contenant jusqu'à 4 atomes de carbone,

R² représente un groupe alkyle à chaîne droite ou ramifiée contenant jusqu'à 6 atomes de carbone ou représente un atome d'hydrogène,

R³ représente un radical répondant à la formule -CO-NH₂ ou -CH₂-OH,

et leurs sels.

3. Dérivés d'indoles substitués répondant à la formule (I) selon la revendication 1, dans lesquels

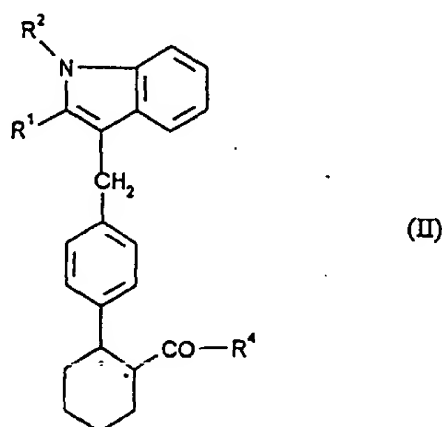
R¹ représente un groupe phényle, un groupe cyclopropyle, un groupe éthyle, un groupe isopropyle ou un groupe n-butyle,

R² représente un groupe alkyle à chaîne droite ou ramifiée contenant jusqu'à 5 atomes de carbone ou représente un atome d'hydrogène,

R^3 représente un radical répondant à la formule $-CO-NH_2$ ou $-CH_2-OH$,

et leurs sels.

4. Dérivés d'indoles substitués selon les revendications 1 à 3 à des fins d'utilisation thérapeutique.
5. Procédé pour la préparation de dérivés d'indoles substitués selon les revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'on saponifie des composés répondant à la formule générale (II)



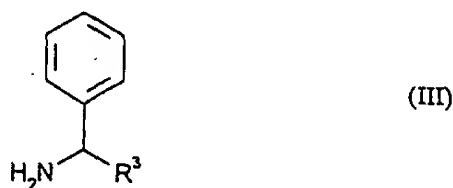
dans laquelle

R^1 et R^2 ont la signification indiquée,

et

R^4 représente un groupe alcoxy en C_1-C_4 à chaîne droite ou ramifiée ou un groupe hydroxyle,

et on fait réagir l'acide le cas échéant en procédant à une activation réalisée en amont, dans des solvants inertes, en présence d'une base et/ou d'un agent de déshydratation avec des dérivés de phénylglycine répondant à la formule générale (III)



dans laquelle

R^3 a la signification indiquée.

6. Médicament contenant au moins un dérivé d'indole substitué selon les revendications 1 à 3.
7. Médicament selon la revendication 6 pour le traitement de l'artériosclérose et de la resténose.
8. Procédé pour la préparation d'un médicament selon les revendications 6 et 7, caractérisé en ce qu'on transforme les dérivés d'indoles substitués, le cas échéant avec des adjuvants et des substances de support appropriés, en

EP 0 725 061 B1

une forme d'application appropriée.

9. Utilisation de dérivés d'indoles substitués selon les revendications 1 à 3 pour la préparation de médicaments.

5 10. Utilisation selon la revendication 9 pour la préparation de médicaments destinés au traitement de l'artériosclérose et de la resténose.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

